



República Federativa do Brasil  
Ministério da Indústria, Comércio Exterior  
e Serviços  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0603256-7 B1**



**(22) Data do Depósito: 04/08/2006**

**(45) Data de Concessão: 18/12/2018**

**(54) Título:** COMPOSIÇÕES QUELATADAS RESISTENTES À OXIDAÇÃO

**(51) Int.Cl.:** A61K 33/26.

**(73) Titular(es):** NPA - NÚCLEO DE PESQUISAS APLICADAS LTDA..

**(72) Inventor(es):** NELSON HENRIQUES FERNANDES FILHO; RICARDO DA SILVA SERCHELI.

**(57) Resumo:** COMPOSIÇÕES QUELATADAS RESISTENTES À OXIDAÇÃO, invenção esta que descreve processos para a produção de novas composições quelatadas de ferro(II) com aminoácidos e ácidos orgânicos sem a interferência de contra íons inorgânicos. Essa invenção também mostra que os novos complexos obtidas são estáveis e solúveis e encontram aplicação como suplementos minerais em dietas de humanos, animais e vegetais.

## "COMPOSIÇÕES QUELATADAS RESISTENTES À OXIDAÇÃO"

### CAMPO TÉCNICO

Esta invenção descreve novos processos para a produção de composições quelatadas de ferro com aminoácidos e ácidos orgânicos sem a interferência de contra íons inorgânicos. Os novos processos possibilitam a produção de complexos minerais em bons rendimentos. Essa invenção também mostra que os complexos são estáveis à oxidação e apresentam boa solubilidade em água. Estes complexos encontram aplicação como suplementos minerais em dietas de humanos, animais e vegetais.

### 10 FUNDAMENTOS DA TÉCNICA

A deficiência de ferro é considerada como a mais comum deficiência nutricional do mundo, e afeta 20% da população mundial. Ferro se destaca como um dos mais importantes minerais para o desenvolvimento saudável do organismo e como o principal agente para a prevenção de quadros de anemia. A deficiência de ferro é um grande problema nutricional em todo o mundo, sendo mais evidente em países menos industrializados. Diversos trabalhos mostram que a deficiência de ferro atinge de 20-50% em países menos desenvolvidos e de 2-28% em países desenvolvidos. A deficiência de ferro pode causar anemia ferropriva, que se classifica como uma das maiores causas de morte no mundo nos dias de hoje. As exigências de ferro são especialmente altas em crianças, adolescentes e gestantes, sendo que os efeitos adversos incluem uma baixa taxa de crescimento e inabilidade de raciocínio para as crianças e problemas na gravidez e redução na capacidade de trabalho em adultos. Mesmo em países industrializados, um dos segmentos humanos que é altamente vulnerável à deficiência de ferro é o das crianças em fase escolar, pois suas necessidades de ferro para a manutenção do crescimento normalmente excedem os níveis disponíveis nas dietas. Em adolescentes, as exigências de ferro também são altas, especialmente em indivíduos que praticam atividades esportivas.

Para disponibilizar ferro para mamíferos, vários alimentos e bebidas são suplementados com esse mineral. A suplementação também é feita através da administração de formulações farmacêuticas hematínicas. A suplementação de ferro como ferro(II) é feita a partir de diversas fontes  
5 como sulfato ferroso, ferro cálcio citrato, fumarato ferroso e quelatos de aminoácidos de ferro, para citar as principais. No entanto, e apesar de serem amplamente utilizados, os complexos minerais de ferro podem apresentar efeitos indesejáveis; tais como baixa estabilidade frente à oxidação, interferindo com outros componentes da formulação e reduzindo  
10 a biodisponibilidade do mineral para o organismo. Em outros casos ainda, os complexos apresentam baixa solubilidade, que dificulta sua formulação e/ou também reduzem a biodisponibilidade do mineral.

Dessa forma, atualmente a escolha e disponibilidade de uma fonte de ferro, a qual não interaja negativamente com a composição dos alimentos e  
15 formulações hematínicas, não cause o aparecimento de sabores desagradáveis e que seja solúvel, facilitando seu emprego em formulações farmacêuticas e na fortificação alimentícia, se tornou motivo de grande preocupação dentro da indústria e tem motivado a realização de diversas pesquisas para a descoberta de fontes de ferro que possam ser utilizadas  
20 nessas aplicações.

Uma forma eficiente de contornar esses problemas é através da formação de complexos minerais que não incorporam apenas uma classe química de compostos, tais como composições formadas pela associação de aminoácidos e sais de metais de ácidos orgânicos. Existem diversos  
25 trabalhos na literatura que descrevem a produção desses composições.

Em um documento, depositado na forma de patente sob o número EP 0,541,796 B1, os autores mostram como manter compostos de ferro(II) estáveis à oxidação através da adição de aminoácidos. Nesse caso, o aumento na estabilidade de sais de ferro(II) pode ser obtida pela adição de

aminoácidos e agentes redutores com açúcares. Nessa invenção, as composições de ferro(II) são preparadas a partir de sais de ferro(II) inorgânicos, tais como cloreto, sulfato e nitrato ferroso ou a partir de sais orgânicos de ferro(II), tais como diformato de ferro ( $\text{Fe}(\text{HCOO})_2$ ), diacetato de ferro ( $\text{Fe}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ), dipropionato de ferro ( $\text{Fe}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO})_2$ ), oxalato de ferro ( $\text{FeC}_2\text{O}_4$ ), tartarato de ferro ( $\text{FeC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ), fumarato de ferro ( $\text{FeC}_4\text{H}_2\text{O}_4$ ) e lactato de ferro ( $\text{FeCH}_3\text{CHOHCOO}$ )<sub>2</sub>.

Em outro documento na forma de patente, depositado sob o número GB 1,292,820, o autor mostra como preparar uma composição hematínica que é estável à oxidação. Nessa invenção, tabletes efervescentes de ferro (II) são preparados através da composição entre sais de ferro (II), tais como gluconato ferroso, tartarato ferroso, fumarato ferroso e succinato ferroso e aminoácidos de baixo peso molecular para minimizar a oxidação de ferro(II) para ferro(III). Exemplos de aminoácidos de baixo molecular que são usados nessa invenção são alanina, treonina, leucina e, mais preferencialmente, glicina. A composição pode ser produzida através da preparação do sal de ferro(II) na presença do aminoácido ou através da reação em fase aquosa de uma dispersão do sal de ferro(II) previamente preparado com uma solução do aminoácido. A quantidade de aminoácido pode ser até 20% do peso do sal de ferro(II) e os produtos resultantes são sais de ferro estabilizados com aminoácidos e/ou com aminoácidos livres adsorvidos, de acordo com o autor.

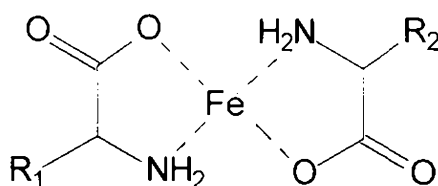
A estabilização de metais é feita normalmente através da formação de quelatos estáveis. Estes quelatos podem ser preparados utilizando os mais variados ligantes, os quais devem ter as características necessárias para sua formação. Entre os ligantes mais utilizados para tal finalidade encontram-se os aminoácidos. Quelatos de aminoácidos são compostos neutros, de estrutura cíclica, que normalmente apresentam dois anéis de cinco membros, formados pela interação entre os grupos carboxila e amina

dos aminoácidos com o cátion metálico. Esses compostos são frequentemente preparados através da reação entre cátions metálicos e pelo menos dois sítios eletronegativos presentes nos aminoácidos, através de interações covalentes e iônicas e, preferencialmente, pela reação entre os cátions metálicos com os grupos carboxila e amina dos aminoácidos. Os quelatos de aminoácidos apresentam constantes de estabilidade adequadas para que possam ser absorvidos pelo organismo e, por esse motivo, são usados com sucesso como componentes para a suplementação mineral em humanos, animais e vegetais.

Os quelatos também podem ser preparados com peptídeos no lugar de aminoácidos livres. Nesse caso, os peptídeos podem estar na forma de dipeptídeos, tripeptídeos ou tetrapeptídeos de baixo peso molecular, obtidos através da hidrólise enzimática de proteínas na presença de endopeptidases e exopeptidases. Fragmentos peptídicos maiores não são recomendados para a formação dos quelatos de interesse se o objetivo é sua aplicação como suplementos minerais, pois quelatos de alto peso molecular não são eficientemente absorvidos pelas membranas do organismo, reduzindo a biodisponibilidade do mineral. No entanto, mesmo sendo possível sob determinadas condições reacionais a preparação de quelatos de peptídeos provenientes de hidrolisados protéicos, é muito difícil caracterizar os produtos formados como quelatos, devido à grande diversidade de estruturas presentes na mistura de peptídeos usados em sua preparação. Dessa forma, esses produtos são mais convenientemente denominados como proteínatos que, de acordo com a *American Association of Feed Control Officials* (AAFCO), é o produto resultante da reação entre um sal metálico solúvel e aminoácidos e/ou proteína parcialmente hidrolisada.

Por outro lado, a AAFCO define como quelatos de aminoácidos os produtos resultantes da reação entre um cátion de um sal metálico solúvel com aminoácidos, em razões estequiométricas que variam de 1 até 3

equivalentes do aminoácido, com formação de ligações covalentes. O peso molecular dos aminoácidos e/ou peptídeos deve ser, em média, em torno de 150 Da e o peso molecular do quelato resultante não pode exceder 800 Da. Esses quelatos, preparados com aminoácidos como ligantes, podem ser caracterizados mais facilmente, através de várias técnicas conhecidas pelos conhecedores da arte, amplamente divulgadas na literatura, tais como espectrometria de infravermelho, espectroscopia de absorção atômica, espectrometria de massas, difratometria/cristalografia de raio-x, entre outras. Quando o metal está coordenado com dois aminoácidos, os quelatos podem ser representados através da seguinte estrutura:



**ESTRUTURA 1**

Na fórmula mostrada acima, as linhas tracejadas representam ligações iônicas ou covalentes e, quando  $R_1$  e  $R_2$  são iguais a H, o ligante é glicina, o mais simples dos aminoácidos. Entretanto,  $R_1$  e  $R_2$  podem representar quaisquer outras cadeias laterais para resultar em qualquer um dos mais de vinte aminoácidos de ocorrência natural ou sintética. Dependendo da valência e do metal, o cátion metálico pode estar coordenado a duas, três, ou até oito aminoácidos, mas preferencialmente, deve estar coordenado com dois a três ligantes. Determinados metais podem formar mais ligações que seu estado de oxidação permite devido ao preenchimento dos orbitais  $d$  livres do metal, como no caso do ferro. Dessa forma, os elétrons não compartilhados do nitrogênio do grupo amina dos aminoácidos podem ser usados para a formação de uma ligação covalente entre o aminoácido e o metal.

Existem vários documentos na literatura descrevendo a preparação de quelatos de aminoácidos. No documento na forma de patente, depositado sob o número US 4,599,152, o autor ensina como preparar quelatos de aminoácidos de íons metálicos selecionados entre ferro, zinco, manganês, magnésio, cobre ou cálcio. Nesse documento, o autor mostra que os quelatos podem ser preparados através de um processo eletrolítico, na ausência de contra-íons inorgânicos. Em outro documento, depositado na forma de patente sob o número US 4,830,716, o autor mostra como preparar quelatos de aminoácidos de íons metálicos selecionados entre cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês ou zinco através da reação entre os aminoácidos e óxidos, hidróxidos ou carbonatos dos metais de interesse. Os quelatos são preferencialmente preparados com glicina e, em alguns casos, ácido cítrico pode ser adicionado ao meio reacional para agir como um regulador de pH ou para clarificar a solução contendo o produto final de interesse. Em outro documento, depositado na forma de patente sob o número US 6,166,071, os autores mostram como preparar quelatos de zinco, formados com glicina e outro aminoácido selecionado entre metionina, cisteína ou cistina. Nesse documento, a relação molar entre a glicina e o aminoácido selecionado pode variar de 1:6 até 6:1 e os quelatos são preparados em fase aquosa a partir de sulfato de zinco.

Em outro documento, depositado na forma de patente sob o número US 5,516,925, os autores mostram, como em documentos anteriormente descritos na literatura, que os quelatos podem ter melhor palatabilidade se forem preparados na presença de pelo menos um aminoácido e um ácido orgânico selecionado entre ácidos monocarboxílicos, dicarboxílicos, hidroxicarboxílicos, hidroxidicarboxílicos ou hidroxitricarboxílicos. Dessa forma, os quelatos que apresentam melhor aceitação ao paladar, são preferencialmente preparados com glicina e ácidos orgânicos, selecionados entre ácido cítrico, málico, tartárico, oxálico, malônico, succínico, maléico,

fumárico ou láctico. O número de unidades de glicina pode variar de 2 a 3 em relação ao metal e as composições devem estar em uma faixa de pH que varia de acordo com o tipo de metal usado na preparação do quelato.

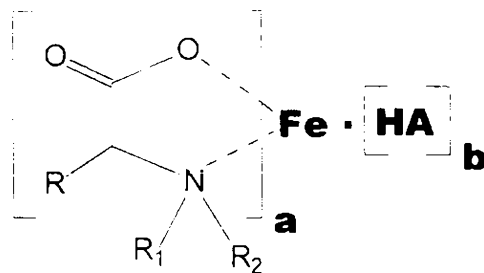
Mais recentemente, em outro documento depositado na forma de  
5 patente sob o número US 6,716,814 B2, os autores mostram como  
aumentar a solubilidade de quelatos de aminoácidos e proteínatos de ferro.  
Nessa invenção, os autores mostram que os quelatos e proteínatos de ferro  
podem se tornar mais solúveis pela mistura dos quelatos previamente  
preparados, com ácidos orgânicos selecionados entre ácido ascórbico, ácido  
10 acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico ou ácido succínico. Nessa  
invenção, os autores mostram como aumentar a solubilidade de Ferro(II)  
bisglicinato, preparado previamente usando uma razão molar de glicina:  
ferro(II) igual a 2:1, através de sua mistura com os ácidos orgânicos de  
interesse. Em outro documento, depositado na forma de uma aplicação de  
15 patente sob o número WO 02/30948 A2, os autores reivindicam um  
processo para a obtenção de quelatos de aminoácidos livres de contra-íons  
inorgânicos. Dessa forma, é reivindicado que os quelatos podem ser  
preparados através da reação de óxido ou hidróxido de cálcio, um  
aminoácido e um sulfato metálico solúvel em uma razão estequiométrica  
20 determinada para a conversão de todo o metal em um quelato de  
aminoácido, com formação concomitante de sulfato de cálcio. Em outros  
casos, os autores reivindicam que os quelatos podem ser preparados  
através da reação de óxido ou hidróxido de cálcio, um aminoácido e um  
sulfato metálico solúvel em uma razão estequiométrica determinada para a  
25 conversão de todo o metal em um quelato que apresenta uma carga  
positiva, neutralizada por um íon hidróxido, com concomitante formação de  
sulfato de cálcio. Em todos os casos reivindicados, o sulfato de cálcio  
formado como subproduto da reação pode ser separado por filtração e os  
quelatos obtidos podem ser recuperados após a eliminação do solvente.

13

## OBJETIVOS E DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

O objetivo dessa invenção é descrever novos complexos de ferro(II) estáveis, bem como seus processos de obtenção. Estes complexos são preparados na presença de ácidos orgânicos e, preferencialmente, ácidos orgânicos polihidroxicarboxílicos e, mais preferencialmente, são preparados com ácido glucônico, ácido glucárico (sacárico) ou ácido lactobiônico. Exemplos de aminoácidos utilizados nessa invenção para a preparação dos complexos de ferro são glicina, lisina, alanina, fenilalanina, leucina, isoleucina, prolina, hidroxiprolina, arginina, metionina, ácido aspártico, ácido glutâmico, valina, treonina, isotreonina, histidina, triptofano, serina e glutamina. Outros aminoácidos também podem ser utilizados, tais como ácido nicotínico e ácido picolínico. No entanto, glicina e lisina são preferencialmente utilizados como aminoácidos para a preparação dos complexos e, mais preferencialmente, os complexos de minerais descritos nessa invenção são preparados com glicina.

É importante ressaltar que os complexos de interesse são preparados em determinadas condições que possibilitam a formação de estruturas heterocíclicas, denominadas como quelatos e devem apresentar pelo menos um fragmento de aminoácido ligado ao metal através de ligações covalentes e iônicas para a formação de uma estrutura de cinco membros. Os outros sítios de valência do metal podem ser ocupados por outros fragmentos de aminoácidos ou por ácidos orgânicos, e isso irá depender das condições que os quelatos forem preparados. No entanto, devem ser utilizadas quantidades de aminoácidos e ácidos orgânicos suficientes para que o produto final tenha estabilidade e solubilidade adequadas. Nessa invenção são descritos complexos de ferro(II) que apresentam uma relação molar metal:aminoácido:ácido orgânico polihidroxilado variando de 1:1:0,4 a 1:2:2,1. Tais composições quelatadas são representadas pela fórmula abaixo:



Fórmula II

Onde temos que **a** é um número inteiro de 1 a 2, **b** varia de 0,05 a 2,1 e **HA** é um ácido orgânico polihidroxílicos representado pelos ácidos glucônico, ácido glucárico (sacárico) ou ácido lactobiônico. Temos também que quando **a** é igual a 1, **b** deverá estar necessariamente entre 0,4 e 1,1. R é igual a H ou qualquer cadeia lateral de um  $\alpha$ -aminoácido de ocorrência natural ou sintético. Quando  $R_1$  é H,  $R_2$  pode ser um membro selecionado do grupo que consiste de H,  $R_4$ ,  $R_5C(O)$ ,  $R_6SO_2$ , e  $[-C(O)CHRNH_2-]_\epsilon$  onde R está de acordo com a definição acima,  $R_4$  é um grupo alquila,  $R_5$  é um grupo alquila ou um resíduo de um ácido policarboxílico,  $R_6$  é um grupo alquila ou arila e  $\epsilon$  é um número inteiro a qual pode ser 1 ou 2. Quando R,  $R_1$  e  $R_2$  são o mesmo radical, neste caso são um grupo alquila, o qual forma um anel piridínico resultando no ácido picolínico. Quando **a** for igual a dois, os dois aminoácidos que compõem o complexo não necessariamente necessitam ser os mesmos.

Esta invenção baseia-se na descrição de complexos metálicos ferrosos extremamente estáveis à oxidação. Os complexos metálicos de ferro com aminoácidos são muito susceptíveis a oxidação; sendo normalmente preparados em atmosfera inerte e, mesmo quando isolados, oxidam quando expostos ao ar. Os compostos desta invenção são muito estáveis, não necessitam ser preparados em atmosfera inerte, sendo até resistentes à oxidação em altas temperaturas e em solução. Não se sabe ao certo qual é o papel dos ácidos orgânicos citados nesta invenção na estabilização dos complexos frente à oxidação. Acreditamos que

estabilização ocorra devido à ligação iônica ao metal central, porém pode haver outros eventos ocorrendo simultaneamente como formação de ligações de hidrogênio ou mesmo devido à estabilização do pH. Sabemos que a adição do ácido estabiliza complexos que são doadores de elétrons, como é o caso dos complexos de ferro(II) com aminoácidos, possivelmente aumentando a força das ligações iônicas e covalentes do composto nos sítios de coordenação do centro metálico.

Nessa invenção os complexos de interesse são preparados a partir de sais de ferro(II) e quelatos de metais alcalinos terrosos com aminoácidos na presença do ácido orgânico ou de um sal do ácido orgânico em meio aquoso ou alcoólico. Exemplos de quelatos de metais alcalinos terrosos com aminoácidos são quelatos de cálcio e magnésio com aminoácidos e, preferencialmente, bis-(glicinato) de cálcio e bis-(glicinato) de magnésio e, mais preferencialmente, bis-(glicinato) de cálcio. Os sais de ferro(II) que podem ser utilizados são sulfatos, cloretos, nitratos, citratos ou oxalatos ferrosos. Os ácidos orgânicos podem ser utilizados na forma ácida ou na forma de sais de metais alcalinos ou alcalinos terrosos. Os seguintes exemplos são utilizados como ilustração da invenção:

EXEMPLO 1 – A uma solução aquosa de sulfato ferroso heptahidratado (50 g, 0,179 mol) foi adicionada lentamente, a temperatura ambiente, a uma solução aquosa de glicinato de cálcio (16,9 g, 0,089 moles) sob agitação. Após a adição, adiciona-se gluconato de cálcio lentamente (38,7 g, 0,089 mol) e a reação é mantida sob agitação por duas horas. A mistura reacional é filtrada e a solução resultante é evaporada a baixa pressão para obter 56 g de um sólido verde, o qual foi caracterizado como sendo (*mono*)-glicinato, (*mono*)-gluconato ferroso, de fórmula molecular  $C_8H_{15}NO_9Fe$ .

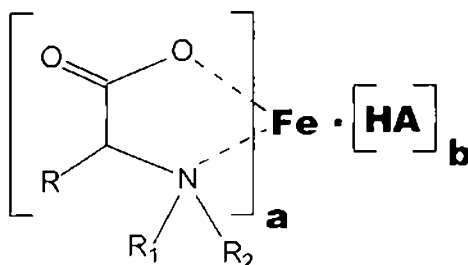
EXEMPLO 2 – A uma solução aquosa de sulfato ferroso heptahidratado (50 g, 0,179 mol) foi adicionada 17,44 g de ácido glucônico. Em

seguida foi adicionada lentamente, a temperatura ambiente, a uma solução aquosa de glicinato de cálcio (33,8 g, 0,179 moles) sob agitação. A reação é mantida sob agitação por duas horas. A mistura reacional é filtrada e a solução resultante é evaporada a baixa  
5 pressão para obter 70 g de um sólido verde, o qual foi caracterizado como sendo o (*bis*)-glicinato, (*mono*)-gluconato ferroso, de fórmula molecular  $C_{10}H_{18}N_2O_{11}Fe$ .

11

REIVINDICAÇÕES

1. Composições quelatadas resistentes à oxidação, **caracterizadas** por quelatos de ferro(II) com aminoácidos e ácidos orgânicos, de acordo com a fórmula:



onde **a** é a quantidade molar representada por um número inteiro que pode variar de 1 a 2, **b** é a quantidade molar do componente **HA**, que pode variar de 0,05 a 2,1; **HA** é um ácido orgânico polihidroxílico representado pelos ácidos glucônico, glucárico (sacárico) e pelo ácido lactobiônico; R é igual a H ou qualquer cadeia lateral de um α-aminoácido de ocorrência natural ou sintético; R<sub>1</sub> é igual a H, R<sub>2</sub> pode ser um membro selecionado do grupo que consiste de H, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>C(O) e [-C(O)CHRNH<sub>2</sub>]<sub>ε</sub>, onde R está de acordo com a definição acima; R<sub>4</sub> é um grupo alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; R<sub>5</sub> é um grupo alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> ou um resíduo de um ácido policarboxílico e ε é um número inteiro, o qual pode ser 1 ou 2; quando R, R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> são o mesmo radical, neste caso são um grupo alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o qual forma um anel piridínico resultando no ácido picolínico.

2. Composições quelatadas resistentes à oxidação, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas** por **HA** consistir de um ácido orgânico polihidroxílico representado pelos ácidos glucônico, ácido glucárico (sacárico) ou ácido lactobiônico, ou misturas dos mesmos e **b** representar as quantidades molares do ácido orgânico polihidroxílico que estão presentes no complexo.

3. Composições quelatadas resistentes à oxidação, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas** por quando a quantidade molar **a** for igual a 1, a quantidade molar **b** do componente **HA** deverá estar necessariamente entre 0,4 a 2,1.

4. Composições quelatadas resistentes à oxidação, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas** por quando a quantidade molar **a** for igual a dois, as duas moléculas que compõem o complexo não necessariamente necessitam ser as mesmas e a quantidade molar **b** que representa **HA** pode variar de 0,05 a 2,1.

5. Composições quelatadas resistentes à oxidação, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizadas** por quando a quantidade molar **a** for igual a dois, **b** representa a quantidade molar suficiente de **HA** para que o complexo permaneça em uma faixa de pH de 2 a 12 e, mais preferencialmente, de 6 a 9.